



El presente artículo corresponde a un archivo originalmente publicado en el **Boletín del Hospital Clínico para sus graduados en provincia**, actualmente incluido en el historial de **Ars Medica Revista de Ciencias Médicas**. Este tiene el propósito de evidenciar la evolución del contenido y poner a disposición de nuestra audiencia documentos académicos originales que han impulsado nuestra revista actual, sin embargo, no necesariamente representa a la línea editorial de la publicación hoy en día.

ESTUDIO CLINICO Y DE LABORATORIO DE LOSSINDROMES HEMORRAGIPAROS

Dr. Pablo Lira V.

El médico general se enfrenta con frecuencia en su práctica, al problema del paciente que sangra ya sea en forma localizada o por múltiples sitios; ante él debe plantearse la interrogante del mecanismo patogénico del sangramiento y la etiología de él y si obedece a una alteración de la hemostasia del individuo o es debido a un daño o agresión del vaso sanguíneo que determina su ruptura y la consiguiente hemorragia. Una exhaustiva anamnesis, un cuidadoso examen físico y un estudio de laboratorio preciso le permitirán llegar a un diagnóstico adecuado.

El problema del médico en Provincia es que con gran frecuencia no cuenta con el hematólogo de experiencia que lo asesore y que el laboratorio, si existe, cuenta con pocos elementos para realizar los exámenes básicos que se necesitan. Pero, teniendo en cuenta estos hechos, creemos que con la anamnesis, el examen físico y algunos estudios de laboratorio mínimos puede en la mayoría de los casos solucionar sus interrogantes. Para esto es necesario que posea ciertos conocimientos básicos de la fisiología de la hemostasia, de su fisiopatología y de los exámenes de laboratorio básicos que permitan determinar si existe una alteración de ella.

El presente documento no pretende analizar estos puntos en forma exhaustiva ni profunda, sino dar una visión al médico en provincia que le sea útil para abordar en forma adecuada estos problemas.

I.- FISIOLOGIA DE LA HEMOSTASIA

Se refiere a un conjunto de fenómenos que previenen y detienen la salida de la sangre fuera del aparato circulatorio.

En la hemostasia normal podemos distinguir 3 etapas o fases. (Figura 1).

- a) Fase Vascolar
- b) Fase Plaquetaria
- c) Fase Plasmática.

a) FASE VASCULAR.-

La integridad del aparato vascular es una condición fundamental para impedir la hemorragia y mantener el medio interno. Si se produce la ruptura de un vaso sanguíneo, la vasoconstricción de este contribuye a disminuir la hemorragia y a permitir la formación de un trombo o tapón plaquetario y, posteriormente, de una red de fibrina que constituye el coágulo definitivo. A su vez, las plaquetas liberan serotonina que provoca vasoconstricción de los vasos afectados y de los adyacentes.

En los capilares, por carecer de fibras musculares y elásticas, no se observa vasoconstricción; en éstos la hemostasia depende de la adhesión de las paredes entre sí.

b) FASE PLAQUETARIA.-

Las plaquetas intervienen en la hemostasia a través de un doble mecanismo, formando un tapón plaquetario en

el sitio de la hemorragia e iniciando el proceso de la coagulación por la liberación de un factor tromboplástico (factor plaquetario 3) que lleva a la formación de la trombo-plastina intrínseca.

El tapón plaquetario se forma porque al suceder la ruptura del vaso sanguíneo, las plaquetas se adhieren al colágeno de la pared vascular, posteriormente se agregan entre ellas en forma reversible al comienzo y después en forma irreversible; ésto es mediado fundamentalmente por liberación de ADP por la plaqueta. El tapón plaquetario constituye un mecanismo hemostático importante y suficiente en el control de la hemorragia por ruptura de vasos arteriolares o venosos; en los vasos de mayor tamaño es necesaria la formación del coágulo de fibrina.

c) FASE PLASMÁTICA. -

Se refiere a la activación de diversas proteínas plasmáticas que interaccionan sucesivamente entre sí, llevando finalmente a la transformación de una proteína soluble, el fibrinógeno, en una insoluble, la fibrina por acción de una enzima la trombina.

El plasma de un individuo normal contiene nueve proteínas que actúan en la coagulación, la mayoría de las cuales están presentes en forma inactiva. Ciertos estímulos como el daño a un vaso sanguíneo, inician la interacción de estas proteínas resultando en la formación del coágulo de fibrina; las plaquetas además de actuar formando un tapón hemostático, como ya fué descrito, liberan un fosfolípido que aumenta la interacción de las proteínas; ésto tiene lugar de una manera secuencial en que unos factores se convierten en enzimas activas mientras que otros actúan como cofactores; este proceso secuencial es lo que se denomina proceso en cascada. En él, y con el propósito de esquematizar, se pueden distinguir 3 etapas o fases:

- 1) En la primera fase a través de la actuación de los factores XII, IX y X y la interacción de los factores XI y VIII y el fosfolípido plaquetario se llega a la formación de un factor tromboplástico o tromboplastina intrínseca.
- 2) En una segunda fase ésta actúa determinando la transformación de la protrombina en trombina que es una enzima.
- 3) En la tercera fase ésta actúa sobre el fibrinógeno, de terminando la formación de cadenas de péptidos (monómeros de fibrina) que se polimerizan para constituir el coágulo de fibrina que es insoluble.

Existe además un sistema fibrinolítico cuyo rol es la lisis de la fibrina cuando ésta se forma; normalmente en el plasma existe una proteína, el plasminógeno que cuando es activado se convierte en plasmina, una enzima que ataca a la fibrina y también a otros factores de la coagulación, determinando la destrucción del coágulo.

II.- FISIOLOGIA DE LA HEMOSTASIS.

Siguiendo el esquema de la fisiología de la hemostasia podemos analizar los mecanismos a través de los cuales se puede alterar.

a) FASE VASCULAR.-

Se puede producir un síndrome hemorrágico por defectos en el vaso sanguíneo mismo o en la matriz del tejido conectivo que los envuelve. Entre aquellas por defectos del vaso sanguíneo se describen el púrpura de Schonlein-Henoch o púrpura alérgico secundario a una vasculitis, la telangiectasia hemorrágica hereditaria o enfermedad de Rendu - Osler en la cual existe una malformación congénita de los vasos de

pequeño calibre con dilatación de ellos y adelgazamiento de su pared. En el púrpura vascular simple que es el más común de las diatesis hemorrágicas, no existe un sustrato anatómico claro; se presenta fundamentalmente en mujeres y se caracteriza por equimosis espontáneas ante mínimos traumatismos especialmente en extremidades inferiores; no tiene mayor importancia clínica y el estudio de la hemostasia es normal, salvo la prueba del lazo que es positiva en la mayoría de los casos; se aduce como mecanismo patogénico un aumento de la fragilidad vascular.

El síndrome de Ehler-Danlos es una afección congénita del tejido conectivo en la que puede verse sangramiento de la piel.

b) FASE PLAQUETARIA.-

En esta etapa de la hemostasia podemos observar alteraciones por disminución del número de plaquetas (Trombopenia) o por funcionamiento anormal de ellas (Trombopatía). La trombopenia puede ser debida a dos mecanismos fundamentales:

- 1) Por falta de producción: Sucede en la Leucemia Aguda y la Aplasia Medular; en la primera por desplazamiento de la médula normal por tejido leucémico y en la segunda por destrucción de la médula.
- 2) Por exceso de destrucción: Lo observamos en la púrpura trombocitopénica idiopática por formación de anticuerpos antiplaquetarios; en la coagulación intravascular diseminada, por consumo de las plaquetas en los sitios de trombosis y en el hiperesplenismo por hipersaquestración de plaquetas a nivel del bazo.

En la trombopatía el número de plaquetas es normal y el defecto reside en su función; puede ser de carácter hereditario como la tromboastenia de Glanzman o adquiridas, como sucede en el síndrome urémico.

El síndrome hemorrágico por alteración plaquetaria ya sea cuanti o cualitativamente se caracteriza fundamentalmente por hemorragias de piel de tipo pete - quial y equimótico, hemorragia de mucosas (nasal, bu - cal, digestiva) y eventualmente hemorragia de parén - quimas como el cerebral.

c) FASE PLASMÁTICA. -

Podemos analizar las posibles alteraciones de las 3 fases de la coagulación que hemos delineado al ha - blar de fisiología de la hemostasia.

- 1.- Las alteraciones de la primera fase o de generación de la tromboplastina intrínseca son más bien poco fre - cuentes y habitualmente hereditarias: La más represen - tativa es la hemofilia A por déficit de factor VIII o globulina anti-hemofílica. El déficit de factor IX o hemofilia B y el déficit de factor XI o hemofilia C son muy raras.

Dependiendo de la severidad del déficit, se manifies - tan por una tendencia hemorrágica espontánea o como consecuencia de traumatismos y generalmente desde la infancia; las hemorragias son de índole diversas pe - ro las más llamativas son los hematomas cutáneos o musculares, las hemartrosis o, en caso de déficit le - ve, la hemorragia desproporcionada consecutiva a una extracción dentaria o ante alguna intervención quirúr - gica.

- 2.- Las alteraciones que se describen en la segunda fase, aquella en que se produce la transformación de la pro - trombina en trombina, son secundarias a déficit de al - gunos factores de la coagulación como II, VII, X y V.

El déficit puede ser debido a:

a) Disminución en la producción: Esta situación ocurre en casos de daño hepático importante agudo o crónico debido a que el hígado es el sitio de síntesis de factores II, VII, X y V; también disminuyen los tres primeros en caso de déficit de absorción de Vit. K. (síndrome de mala absorción) o por acción de anticoagulantes del tipo cumarínico que bloquean su acción, impidiendo la síntesis de los factores del complejo protrombínico.

b) Aumento del consumo: Esto ocurre en la coagulación intravascular diseminada en la cual debido a procesos sépticos, tumores o patología obstétrica se activa la coagulación con formación de fibrina en los vasos sanguíneos y el consiguiente consumo de plaquetas y de factores como el II y el V; de ahí que también se denomine a este síndrome, coagulopatía por consumo.

Existe también el déficit congénito de factores del complejo protrombínico pero son situaciones muy raras.

El síndrome hemorrágico producido por alteraciones en esta fase se caracteriza fundamentalmente por hemorragias cutáneas tipo equimosis y de mucosas (epistaxis, gingivorragia, hemorragia digestiva o urinaria).

3.- Las alteraciones de la tercera fase de la coagulación se deben a disminución del fibrinógeno. Esto puede ser de origen congénito, situación de muy rara ocurrencia, o adquirido. Esta puede ser:

a) Por disminución en la producción en caso de daño hepático severo.

b) Por exceso de consumo como sucede en la coagulación intravascular diseminada en la cual existe además, como ya hemos señalado, disminución de otros factores como el II, el V y plaquetas.

- c) Por destrucción enzimática del fibrinógeno debido a la acción de la plasmina que se forma en caso de activación del sistema fibrinolítico.

Por último analizaremos brevemente las alteraciones del sistema fibrinolítico: Este puede activarse en forma secundaria, como sucede cuando se forma un coágulo en un vaso sanguíneo, o en forma primaria como ocurre en ciertos tumores en que se liberan sustancias activadoras en la circulación; el producto final es la formación de la plasmina enzima que disuelve la fibrina pero que también actúa sobre el fibrinógeno y otros factores de la coagulación.

DIAGNOSTICO CLINICO

Las manifestaciones de una alteración de la hemostasia pueden presentarse de dos maneras:

- a) Como sangramiento generalizado que compromete piel, mucosas y eventualmente órganos.
- b) Como sangramiento local sea en piel, músculo, mucosas u órganos y de carácter espontáneo o secundario a una agresión como traumatismo o intervención quirúrgica.

El sangramiento generalizado corresponde prácticamente siempre a una alteración de la hemostasia: en cambio, el sangramiento local puede ser por lo mismo o por lesión local del vaso sanguíneo por diversas causas.

En caso de hemorragia generalizada o por múltiples sitios, el diagnóstico clínico de la o las causas que la motivan debe hacerse mediante una exhaustiva anamnesis y un cuidadoso examen físico. En la anamnesis es importante interrogar sobre antecedentes de familiares que tengan o hayan tenido manifestaciones hemorrágicas, lo que orienta hacia una alteración hereditaria de la hemostasia, generalmente en el sentido de déficit de factores de la coagulación. Los antecedentes personales de síndrome hemorrágico previo especialmente de años de evolución o desde la infancia también orientan en un mismo sentido; no así los de semanas o pocos meses de evolución que hacen pensar más bien en alteraciones adquiridas de la hemostasia. Es preciso interrogar sobre sangramiento excesivo ante procedimientos quirúrgicos menores como extracción de piezas dentarias, ante intervenciones como apendicectomía, amigdalectomía y ante traumatismos de cualquier tipo; la negatividad de estos datos tiende a descartar un defecto congénito de la hemostasia. Los antecedentes de síndrome anémico o infeccioso asociado al síndrome hemorrágico son importantes pues orientan hacia una alteración adquirida y probablemente secundaria a procesos como leucemia aguda, aplasia medular o sepsis con coagulación intravascular diseminada. El examen físico es muy importante en un síndrome hemorrágico generalizado pues permite sospechar su mecanismo patogénico; debe precisarse las características del sangramiento; si es petequial orienta hacia falla plaquetaria; si es equímosis y hemorragias por mucosas orienta hacia déficit de factores (P: Ej: Cirrosis); si es de hematomas y hemartrosis orienta hacia hemofilia; la ubicación predominante en extremidades inferiores nos induce a pensar en una causa vascular. Debe señalarse también si hay síndrome anémico o infeccioso asociado, si hay esplenomegalia y en especial cualquier hecho que nos pueda orientar en cuanto al diagnóstico.

En el caso de la hemorragia localizada con frecuencia al médico se le plantea la duda si una epistaxis prolongada o repetida, si una hemorragia más allá de lo habitual después de una extracción dentaria o si la hemorragia

importante por el sitio de la intervención en un postoperatorio es por una causa local o si es la manifestación local de una alteración de la hemostasia y si es ésto a qué se debe. Todo lo que hemos señalado para la hemorragia generalizada será útil también en estos casos; la ausencia de antecedentes familiares y personales de sangramiento por otros sitios y de evidencias de alguna enfermedad basal que pueda alterar la hemostasia hará más probable que la hemorragia sea de origen local y no por alteración de la hemostasia. Naturalmente si hay dudas de ésto, se tendrá que practicar los exámenes básicos que estudien la hemostasia en sus diferentes fases.

Es posible que con sólo los elementos de anamnesis y de examen físico se pueda diagnosticar la mayoría de los síndromes hemorrágiparos y establecer su mecanismo patogénico o negar la existencia de una alteración de la hemostasia como causa del sangramiento; de ahí la importancia de ambos y que sean realizados con acuciosidad y dedicación. Lo anterior resulta particularmente importante si consideramos que en la provincia hay pocos lugares que dispongan de un Laboratorio que posea los elementos necesarios para realizar un estudio de coagulación básico.

DIAGNOSTICO DE LABORATORIO

Analizaremos los exámenes de laboratorio básico susceptibles de realizar en hospitales de provincia y que permitan realizar un diagnóstico acertado de la etiología y patología del síndrome hemorrágiparo.

I.- En las diatesis hemorrágicas de causa vascular lo más habitual es que los exámenes de laboratorio sean normales y sólo en ocasiones se encuentra prueba del lazo positiva que indica una fragilidad vascular aumentada.

II.- Para detectar una anormalidad en la fase plaquetaria de la hemostasia existen dos pruebas fundamentales.

a) Determinación del número de plaquetas: nos va a señalar si existe o no trombopenia. Para esto puede realizarse un frotis de sangre teñido con May Grunwald Giemsa obtenido del dedo o de punción venosa lo que permite apreciar si están normales, aumentadas o disminuidas y en qué grado, o puede contarse en cámara para lo cual hay que contar con un microscopio con contraste de fase.

Lo primero es sencillo y puede y debe ser realizado por cualquier médico y en cualquier lugar en que se encuentre, dando información rápida y útil. La cuantificación exacta de las plaquetas no es indispensable pero es útil sobre todo en estudios seriados que permiten apreciar la evolución de la enfermedad o la efectividad de un tratamiento. El hemograma además puede proporcionarnos otros elementos de juicio útiles para precisar la etiopatogenia de una trombopenia; la determinación del hematocrito, hemoglobina, recuento absoluto y diferencial de leucocitos puede demostrarnos una pancitopenia que nos oriente hacia una aplasia medular o a una leucemia aguda si encontramos blastos; la presencia aislada de trombopenia asociada a anemia concordante con antecedentes de hemorragia nos orientará a una púrpura trombocitopénica idiopática. El diagnóstico definitivo de estas afecciones se hará con un examen de la médula ósea.

b) Tiempo de sangría: Se prolonga cuando existe un defecto funcional plaquetario suponiendo que el número de ellas sea normal. Puede realizarse de dos maneras: el método de Duke que usa el lóbulo de la oreja y el de Ivy que utiliza la superficie de flexión del antebrazo; en ambos se mide

el tiempo en que se cohibe la hemorragia después de una incisión de diámetro y profundidad standard. Mide la capacidad de las plaquetas de aglutinarse y formar un trombo capaz de detener la hemorragia. No tiene sentido hacerlo cuando hay trombopenia pues será siempre anormal.

III.- Las alteraciones de la fase plasmática de la he-mostasia se estudian en tres Test fundamentales; el tiempo parcial de tromboplastina que mide la primera fase de la coagulación, el tiempo de protrombina que mide la segunda fase y el tiempo de trombina que mide la tercera fase. Los tres Test pueden realizarse con una escasa cantidad de plasma citratado y son similares, variando sólo los reactivos utilizados.

a) Tiempo parcial de tromboplastina: Tal como hemos seña lado mide fundamentalmente la primera fase de la coagu lación, siendo útil por lo tanto para detectar deficiencias de factores: XII, XI, IX y VIII las que generalmente son de origen hereditarios siendo la hemofilia A o déficit de factor VIII la más frecuente dentro de lo poco habitual que son. También se altera el T.P.T. en casos de déficit de factor X y V lo que se observa por ejemplo en el daño he pático importante, situación en la cual también se altera el tiempo de Protrombina. El procedimiento es sencillo y consiste en mezclar plasma y cefalina (tromboplastina par cial) y medir el tiempo en que aparece el coágulo de fibri na después de agregar calcio.

b) Tiempo de protrombina: Mide la segunda fase de la coa gulación o sea la transformación de la protrombina en trombina. En este Test intervienen los factores VII-II-V-X y también fibrinógeno ya que a pesar de formar éste parte de la tercera fase, si disminuye determina un T.P. altera do a pesar de estar la segunda fase normal. Todos ellos son sintetizados en el hígado y el VII-X y II dependen de la Vit. K. para su síntesis. El Test se basa en el tiempo que

demora en coagular un plasma citrado al cual se le agrega tromboplastina y calcio; normalmente es de 11-13 segundos. Se prolonga fundamentalmente en caso de daño hepático en los cuales disminuye la síntesis de factores ya mencionados. También se prolonga en los pacientes tratados con cumarínicos y en la coagulación intravascular diseminada por consumo de factores II y V.

c) Tiempo de Trombina. Mide la tercera fase de la coagulación; aquella en la cual el fibrinógeno se transforma en fibrina por acción de la trombina. Consiste en agregar al plasma del paciente una cantidad determinada de trombina y medir el tiempo en que se forma el coágulo. Se prolonga fundamentalmente cuando disminuye el fibrinógeno y también en casos de administración de heparina; de ahí que si se excluye esta última eventualidad, su valor da una información rápida de los niveles de fibrinógeno en el paciente. Esto es importante cuando se sospecha una hipofibrinogenemia debido a coagulación intravascular diseminada como sucede en sepsis, shock, patología obstétrica como desprendimiento prematuro de placenta, retención de feto muerto y embolia de líquido amniótico.

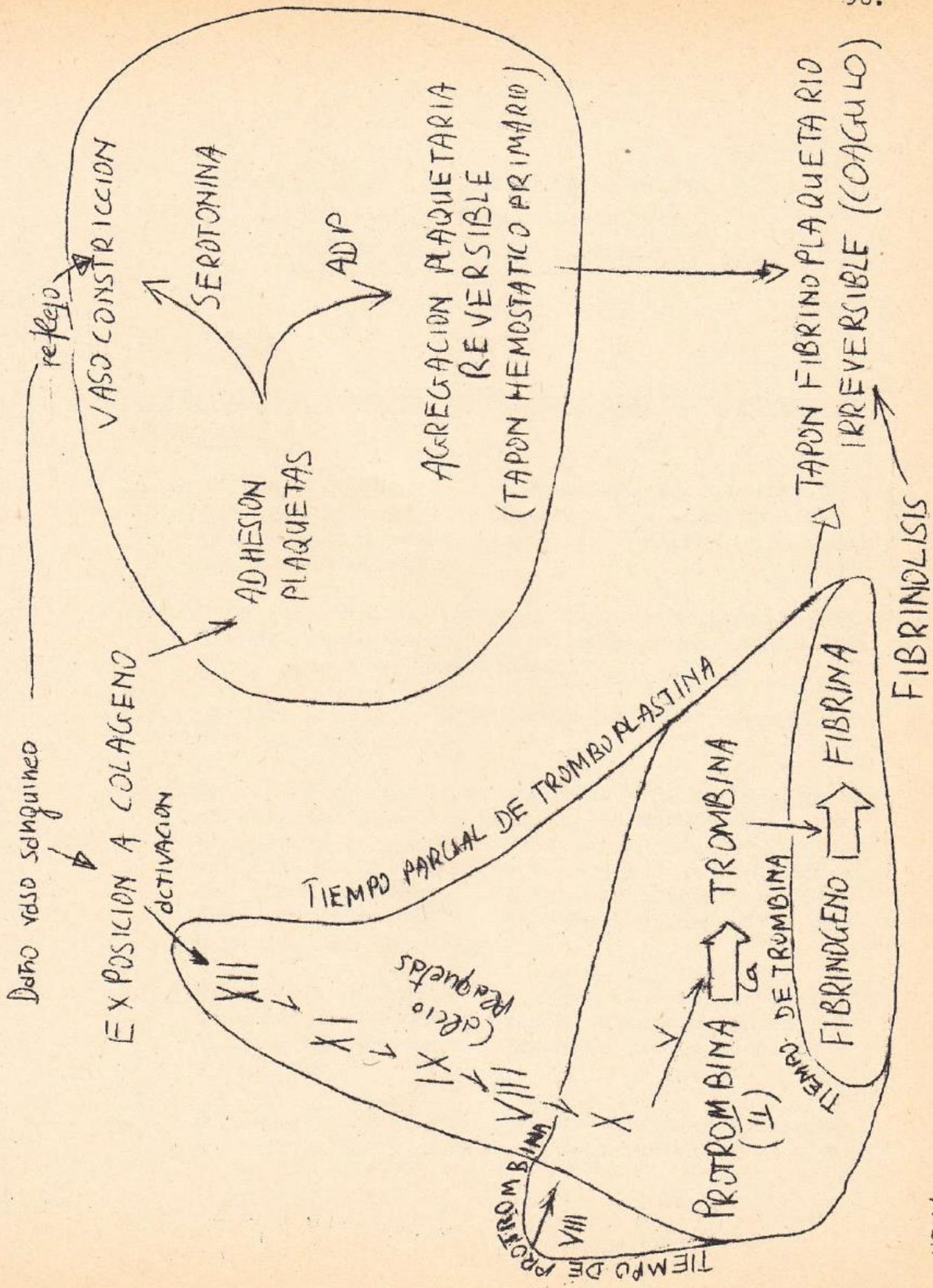
Los tres Test analizados, el T.P.T., T.P. y T.T. son métodos básicos de estudio de la coagulación y dan una idea de la fase que está alterada; el diagnóstico de certeza en el sentido de cual es el factor que está disminuido se obtiene con el dosaje de cada uno de ellos, lo que es difícil de realizar en provincia.

La fibrinolisis puede estudiarse con un método sencillo que está al alcance de cualquier centro; consiste en medir el tiempo en que se lisa el coágulo incubado a 37°, comparado con un normal.

Existen otros Test que se pueden realizar en cualquier hospital, como el tiempo de coagulación y la retracción del coágulo.

El primero de ellos se refiere al tiempo en que coagula una muestra de sangre en un tubo de vidrio a 37°. Se prolonga en casos de deficiencia severa de factores de coagulación (excluyendo el VII y el XIII) y cuando hay anticoagulantes circulantes. Es muy poco sensible y por lo tanto su utilidad es relativa ya que si es normal no excluye un déficit de factores. Su mayor utilidad está en el control del tratamiento anti-coagulante con heparina.

La retracción del coágulo: se refiere a la capacidad de retraerse que tiene el coágulo formado en un tubo de vidrio y mantenido a 37° ; se altera fundamentalmente cuando hay disminución del número de plaquetas o funcionamiento anormal de éstas; como ésta última situación es muy poco frecuente y dado que la retracción puede ser normal cuando hay disminución leve de las plaquetas creemos que este Test no ofrece mayores ventajas en provincia y que es mejor la apreciación del número de ellas por el frotis sanguíneo, que puede ser complementado con la retracción del coágulo.



GENERALIDADES Y ASPECTOS TECNICOS DEL
TIEMPO PARCIAL DE TROMBOPLASTINA
TIEMPO DE PROTROMBINA Y TROMBINA

- 1.- PRECAUCIONES A TENER EN CUENTA PARA REALIZAR PRUEBAS DE COAGULACION.-
 - 1.1.- Cada vez que se realice un examen de coagulación debe controlarse la calidad de los reactivos a ocupar para lo cual es preciso realizar un control con plasma normal.
 - 1.2.- Cada laboratorio, sobre la base de su propia experiencia, establecerá sus valores normales para cualquier prueba de coagulación.
 - 1.3.- De cada prueba de coagulación se harán como mínimo, 2 ó 3 determinaciones.
 - 1.4.- La sangre se extrae de una vena y la punción se hará en forma rápida y precisa, de manera de evitar al máximo la contaminación con la tromboplastina tisular; por lo tanto no son útiles las extracciones obtenidas después de una prolongada y dificultosa punción venosa. También hay que evitar el excesivo estasis venoso.
 - 1.5.- Es absolutamente necesario que la relación entre la cantidad de sangre y anticoagulante a ocupar sea exacta; igualmente con los reactivos y plasmas a investigar.
 - 1.6.- Es conveniente centrifugar inmediatamente la muestra a investigar para la extracción del plasma, el cual

se debe guardar a 4°C. si no se realiza el examen de inmediato.

No deben efectuarse las pruebas de coagulación pasado 5 horas de extraída la sangre.

- 1.7.- La aspiración del plasma a estudiar se efectúa con una pipeta individual.
- 1.8.- El material de vidrio que se ocupa en las pruebas de coagulación debe estar escrupulosamente limpio.
- 1.9.- Todas las pruebas de coagulación detalladas más adelante, se realizan en baño termostático de 37°C y los reactivos, tromboplastina, tromboplastina parcial y Cloruro de Calcio (guardados a 4°C) se pondrán en el baño termorregulable por lo menos 20 minutos antes de la realización de los exámenes y se mantendrán allí mientras dure la determinación de los exámenes. La solución original de trombina se guarda en el congelador y cada vez que se necesite se prepara la solución con 5-10 U/ml.

2.- EQUIPO Y REACTIVOS A USAR.-

- 2.1.- Baño de agua calentado a 37°C.
- 2.2.- Tubos de vidrio 13 x 100 mm.
- 2.3.- Cronómetro.
- 2.4.- Centrífuga.
- 2.5.- Citrato de Sodio, 3,8% u oxalato de Sodio 1.34% para usar como anticoagulante sanguíneo en la proporción 1:9
- 2.6.- Cloruro de Calcio 0,025 M.
- 2.7.- Tromboplastina comercial (Ortho, Hyland) o bien preparada a partir de cerebro humano o de conejo (leer instrucciones adjuntas).

- 2.8.- Tromboplastina parcial Hyland o Tromboplastina (Trombofax Ortho). o Cefalina (extracto clorofórmico de cerebro) Leer instrucciones adjuntas.
- 2.9.- Trombina Tópica Parke-Davies.
- 2.10.- Cloruro de Sodio al 9%.

A.- TIEMPO DE PROTROMBINA. Método de Quick.

Determina lo que se llama complejo protrombínico y que incluye los factores II-V-VII y X de coagulación. Para su normalidad el Tiempo de Quick requiere un nivel normal de fibrinógeno, como también ausencia de inhibidores. (anticoagulantes circulantes).

a) REACTIVOS.

- 1.- Solución de tromboplastina.
- 2.- Cloruro de Calcio 0.025 M.
- 3.- Plasma oxalatado o citratado (1:9).

b) TECNICA.

Con una pipeta se introduce 0,1 ml de plasma en un tubo 11x100mm previamente calentado a 37°C. en el baño y se le añade 0.1 ml de una solución de tromboplastina y 0.1 ml de Cloruro de Calcio 0.025 M. Este último se arroja poniendo en marcha al mismo tiempo un cronómetro. Se observa la formación de coágulo.

c) TIEMPO NORMAL.

El tiempo que tarda en coagular el plasma luego de agregado tromboplastina y Cloruro de Calcio varía en función de la actividad de la tromboplastina utilizada. Es indispensable conocer previamente el Tiempo

Normal que corresponde a dicha tromboplastina que en general oscila entre 11 a 13 segundos.

En razón de lo dicho es aconsejable expresar los resultados en % del tiempo anormal. De este modo se considera que un valor por debajo de 70% es normal. Para ésto se requiere un calculador de la actividad protrombínica (Dade. Ortho, Hyland) o bien confeccionar una curva de calibración a partir de un pool (2) normal.

d) CONFECCION DE CURVA DE CALIBRACION.

En 4 tubos de 13 x 100 mm se colocan respectivamente 1 cc de plasma normal (pool) dejando el primero sin diluir (=100%) y se añade al 2º, 1 cc de suero fisiológico (=50%), al 3º, 3 cc (=25%) y al 4º, 7 cc (=12,5%) de solución fisiológica de Cloruro de Sodio. Se les determina el Tiempo de Quick en cada una de las diluciones (en duplicado). Se construye a continuación una curva tomando el Tiempo de Protrombina del plasma normal no diluido como 100% y el de las diluciones como % de actividad protrombínica.

La curva es válida únicamente cuando se emplean los mismos reactivos y deberá ser verificada periódicamente.

B.- TIEMPO DE TROMBOPLASTINA PARCIAL. O.T.P.T.

Si se recalcifica plasma citratado u oxalatado en presencia de "Tromboplastina parcial o incompleta" el tiempo de coagulación va a depender de la integridad de los factores que intervienen en la primera etapa de la coagulación.

a) REACTIVOS.

- 1.- Trombofax (Ortho), tromboplastina parcial Hyland o Cefalina.
- 2.- Cloruro de Calcio 0.025 M.
- 3.- Plasma citratado u oxalatado pobre en plaquetas (sangre centrifugada a 3000 rpm/30'.)

b) PROCEDIMIENTO.

En un tubo de 13 x 100 mm colocado en baño de incubación a 37°C se coloca 0,1 ml de plasma, se agrega 0,1 de tromboplastina parcial, se incuba la mezcla durante 2 minutos al cabo del cual se agrega 0,1 ml de Cloruro de Calcio poniendo en marcha el cronómetro y anotando el momento en que se forma el coágulo.

El plasma normal da resultados menores a 100 segundos. Cuando existe una deficiencia tromboplástica la mezcla coagula después de 100 segundos en proporción directa al grado de deficiencia existente.

NOTA.

Algunas tromboplastinas parciales comerciales traen además caolin.

El tiempo de coagulación del TPT será más corto.

C.- TIEMPO DE TROMBINA.

Mide el fibrinógeno plasmático. Consiste en agregar trombina que actuará directamente sobre el fibrinógeno transformándolos en fibrina. Para su normalidad, la prueba requiere ausencia de antitrombina (incluyendo heparina).

a) REACTIVOS.

- 1.- Solución de trombina de 10u/ml (necesaria para que coagule a un plasma normal entre 10 a 15 segundos).
- 2.- Plasma citratado u oxalatado.

b) TECNICA.

En un tubo colocado en baño a 37°C se pone 0,2 ml de plasma a estudiar y se le agrega 0,1 ml de solución de trombina poniendo al mismo tiempo en marcha el cronómetro y tomando el Tiempo de Coagulación.